

LAS PROTEASAS EN EL TRIGO Y SUS PRODUCTOS

FRANCISCO GARCIA OLMEDO

Ingeniero Agrónomo y Licenciado
en Ciencias Químicas

Es un hecho de sobra conocido que la cantidad y calidad del *gluten* de la harina condicionan muy directamente las propiedades plásticas y elásticas de la masa de panificación. Se llama *gluten* a una fracción de las proteínas de la harina que es insoluble en soluciones salinas diluidas y que representa aproximadamente el 80 por 100 de las proteínas totales.

Diversos investigadores han comprobado la presencia, en el trigo y en los ingredientes de panificación, de enzimas proteolíticos llamados *proteasas*, capaces de degradar los diversos tipos de proteínas. Resulta, pues, de un interés evidente analizar las posibles consecuencias que la presencia, o la adición, de estos enzimas puede tener en las características de un factor de calidad tan importante como el *gluten*.

Cuestiones básicas

Las proteínas son sustancias orgánicas complejas, que contienen nitrógeno, y cuya estructura consiste en cadenas de longitud y ramificaciones variables. Los eslabones de estas cadenas son unos compuestos que reciben el nombre genérico de *aminoácidos*, habiéndose encontrado 18 tipos distintos de éstos en el trigo. Las unidades de aminoácidos se enlazan entre sí por un tipo especial de enlace carbono-nitrógeno, que recibe el nombre de *enlace peptídico* (figura 1). El orden y la proporción en que cada uno de los tipos de aminoácidos entran a formar parte de la gran molécula de proteína, así como la longitud y complicación de las ramificaciones, son responsables de la inmensa gama de proteínas que encontramos en la naturaleza. Las proteasas cata

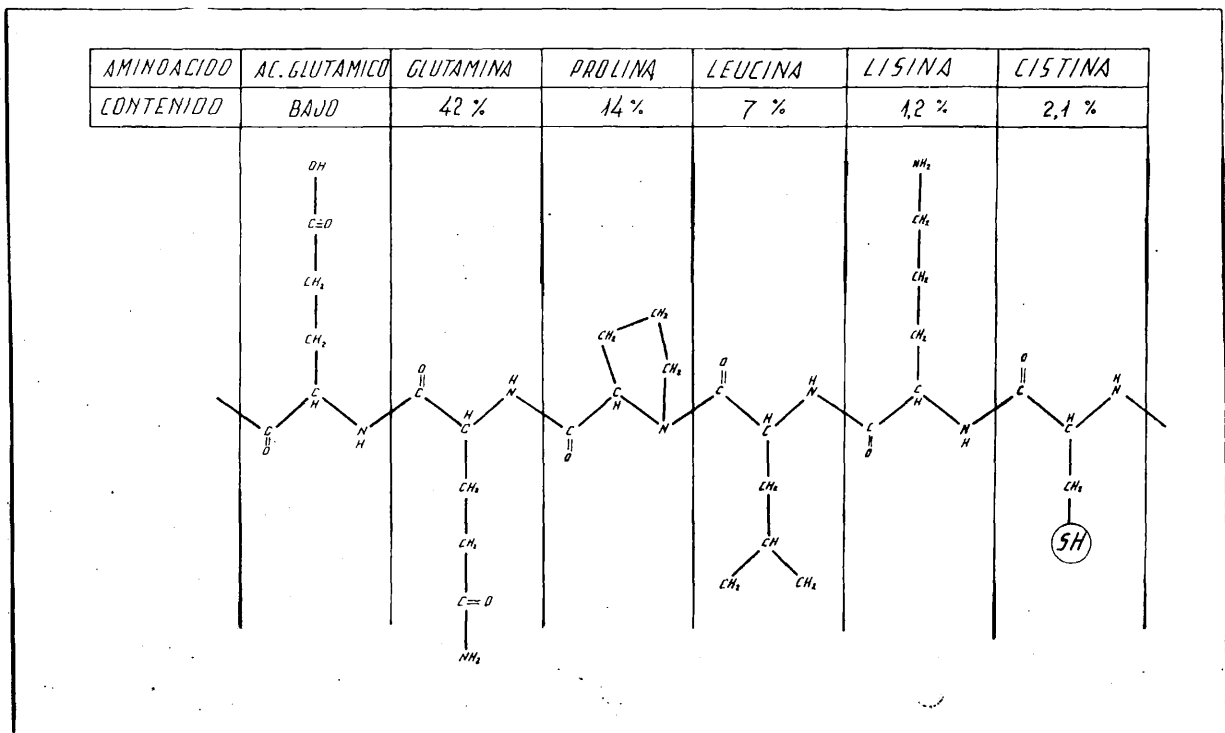


Fig. 1.—Principales aminoácidos del trigo. Enlace peptídico.

lizan la disociación del enlace peptídico, produciendo cadenas más cortas, llamadas *polipéptidos*, y liberando aminoácidos (figura 3). Es corriente distinguir entre las proteasas capaces de atacar a la molécula intacta de proteína, *proteinasas*, y las que sólo pueden atacar a los polipéptidos, a las que se llama *peptidasas*.

Un cierto tipo de aminoácidos, la cistina (figura 1), posee un grupo SH, que le permite enlazar con otro de las mismas características de otra cadena, sin perjuicio de enlazar con los dos contiguos por enlace peptídico. Este enlace, que es del tipo azufre-azufre, puede formarse asimismo con otro aminoácido similar de su misma cadena. La estabilidad de esta forma de enlace es mucho menor que la del enlace peptídico, ya que puede ser revertido a la forma —SH por reducción (figura 2). Este hecho tiene gran importancia, según discutiremos más adelante, al hablar de la acción de los mejorantes.

No podemos dejar de mencionar un tercer tipo de enlace, llamado *punto de hidrógeno*, sobre el que nos extenderemos, dada su poca trascendencia en la técnica panadera actual.

Métodos analíticos

El primer problema que se planteó en el estudio de las proteasas fue el desarrollo de métodos ade-

cuados para la determinación cuantitativa de su actividad. Los numerosos métodos propuestos determinan la actividad proteolítica mediante la medida de los cambios, físicos y químicos, que los extractos enzimáticos producen en una proteína patrón (figura 3). Northrop (1932) describió un método viscométrico en el que aprovechaba las variaciones de viscosidad que el enzima producía en una solución de gelatina, para determinar su actividad. Este método, con algunas modificaciones, fue aplicado más tarde por Koch y Ferrari (1955) a las proteasas empleadas en panificación.

El método farinográfico se basa igualmente en cambios físicos derivados de la acción enzimática. Este método fue preconizado por Landis y Frey (1938) y modificado por Jhonson y Miller (1953). La concentración del enzima resulta proporcional a la disminución de consistencia que experimenta una masa patrón, medida en el *farinógrafo* después de quince minutos. La masa se prepara con una cantidad de agua predeterminada para producir una consistencia máxima de 500 U. F., y se le hace reposar cuatro horas a 30° C. y pH 4,7, con un exceso de alfa-amilasa.

La mayor parte de los métodos químicos se basan en la valoración de los aminoácidos liberados en la proteólisis de un sustrato patrón que puede ser gluten, caseína, hemoglobina, etc.

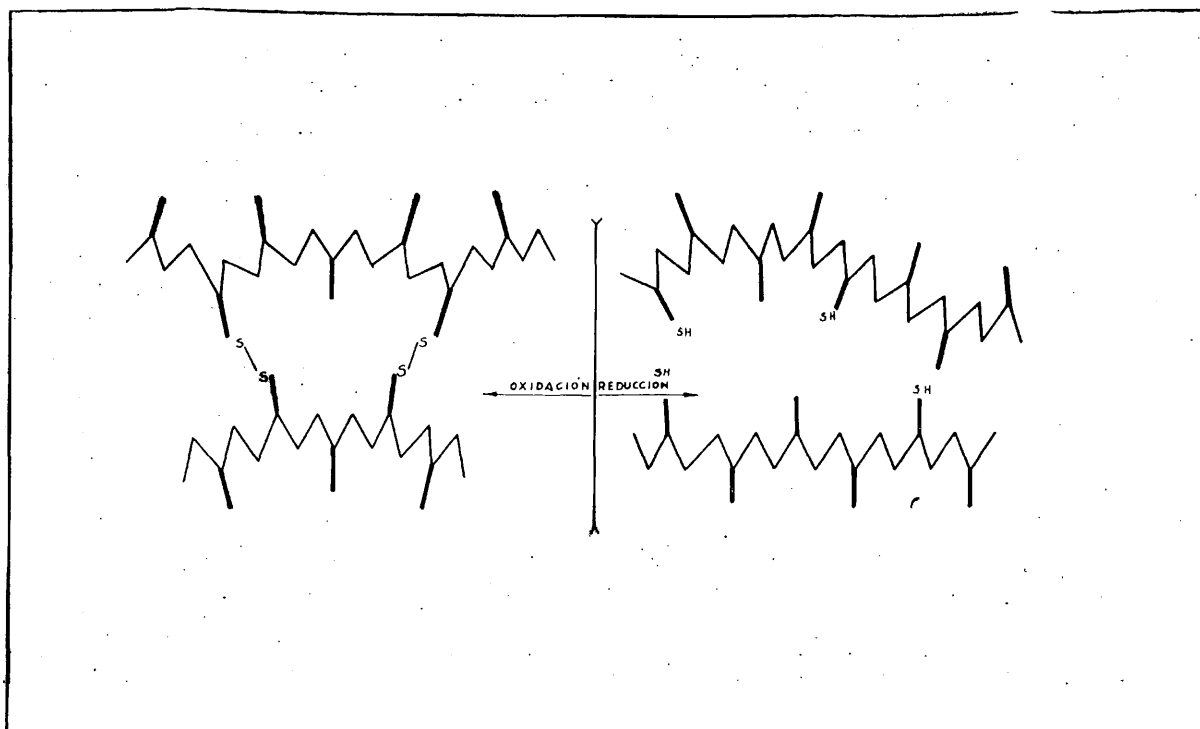


Fig. 2.—Acción de los oxidantes y de los reductores sobre las cadenas de proteína.

Ayre y Anderson (1939), utilizando hemoglobina como sustrato, determinaron el nitrógeno soluble que quedaba después de precipitar la proteína no degradada con ácido tricloroacético. Dicha determinación la realizaron por el procedimiento de Kjeldahl y por un procedimiento óptico más sencillo basado en la medida de la absorbancia a una longitud de onda de 275 milimicras. Este procedimiento óptico fue utilizado igualmente por Grief (1950), en un método consistente en la precipitación de la proteína degradada con bromosulfaleína y medida de la absorbancia.

Otro método químico se basa en la determinación de los aminoácidos liberados con álcali valorado, previo bloqueo de los grupos amínicos con formol.

Bowlby, Tucker, Miller y Johnson (1953) comprobaron la buena concordancia entre los métodos quí-

Distribución

La aplicación de los métodos analíticos descritos ha permitido comprobar la presencia de enzimas proteolíticas tanto en el trigo y sus fracciones como en los ingredientes de panificación.

Separando por disección distintas partes del grano, Pett (1935) localizó la actividad proteolítica en el escutelo y en el embrión, mientras que no consiguió detectar actividad alguna en la cubierta y en el endospermo.

La actividad proteolítica de las distintas fracciones de la molienda fue estudiada por Balls y Hale (1936), quienes encontraron que ésta decrecía por el orden: germen, salvado, harina integral, harina blanca.

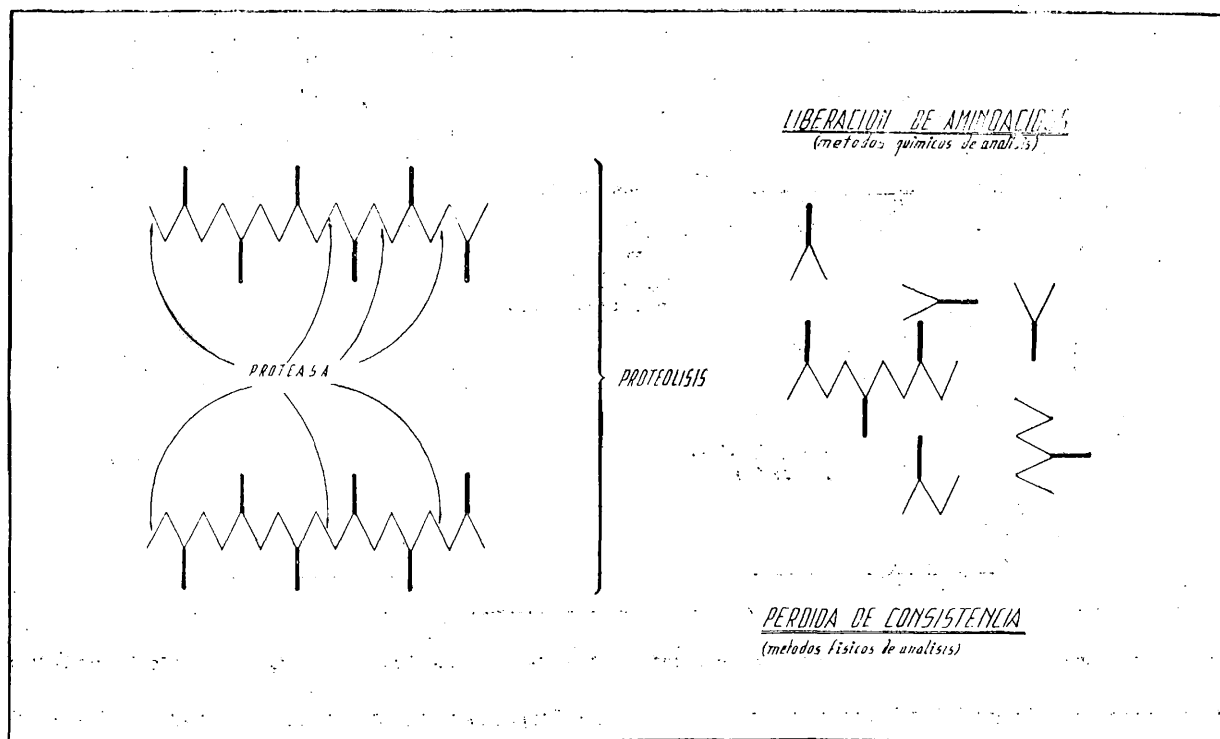


Fig. 3.—Proteolisis. Fundamento de su determinación analítica.

micos descritos y el farinográfico. El resultado de sus experiencias se resume en la figura 4. Es de notar que cuando se emplea el método de Ayre y Anderson se presentan dos tipos de comportamiento de los enzimas. Otros métodos químicos, basados en la coagulación de la leche y en la digestión del gluten, no dieron resultados concordantes, según los mismos autores.

Mounfield (1936) comprobó que la actividad proteolítica de la semilla de *trigo germinado* era unas diez veces superior a la del trigo sin germinar. Este mismo orden de actividad presenta el *trigo maltado*.

El contenido en enzimas proteolíticas de la *levadura* es bastante elevado, pero son de naturaleza eucelular y no pueden atravesar la membrana de

las células. Por esta razón, la adición de levadura sana a la masa no trae consecuencias para la proteína.

Los aditivos amilásicos, comerciales, preparados a partir de microorganismos del género *Aspergillus*, suelen llevar un suplemento proteolítico que puede estar indicado para cierto tipo de harinas.

El trigo «garrapatillado» tiene un elevadísimo contenido en enzimas proteolíticas. Los pentatómidos del trigo, según ha descrito García Faure en estas páginas, dejan un residuo de enzimas proteolíticos en el grano, que trae como consecuencia la degradación del gluten.

panadera, a la inhibición de los enzimas proteolíticos. Investigaciones posteriores, realizadas por Howe y Glick (1945) y por Hites, Sandstedt y Schaumbert (1953), pusieron en duda los resultados experimentales de Jorgensen, aunque hoy podemos explicar las diferencias por las concentraciones de activadores e inhibidores considerablemente menores empleados por los últimos autores. Otros hechos experimentales no lograron ser explicados por la teoría proteolítica de la acción mejorante. El efecto deletéreo del germen sobre las características de la masa y la calidad del pan disminuía al prolongarse la fermentación, aunque, de acuerdo con la teoría

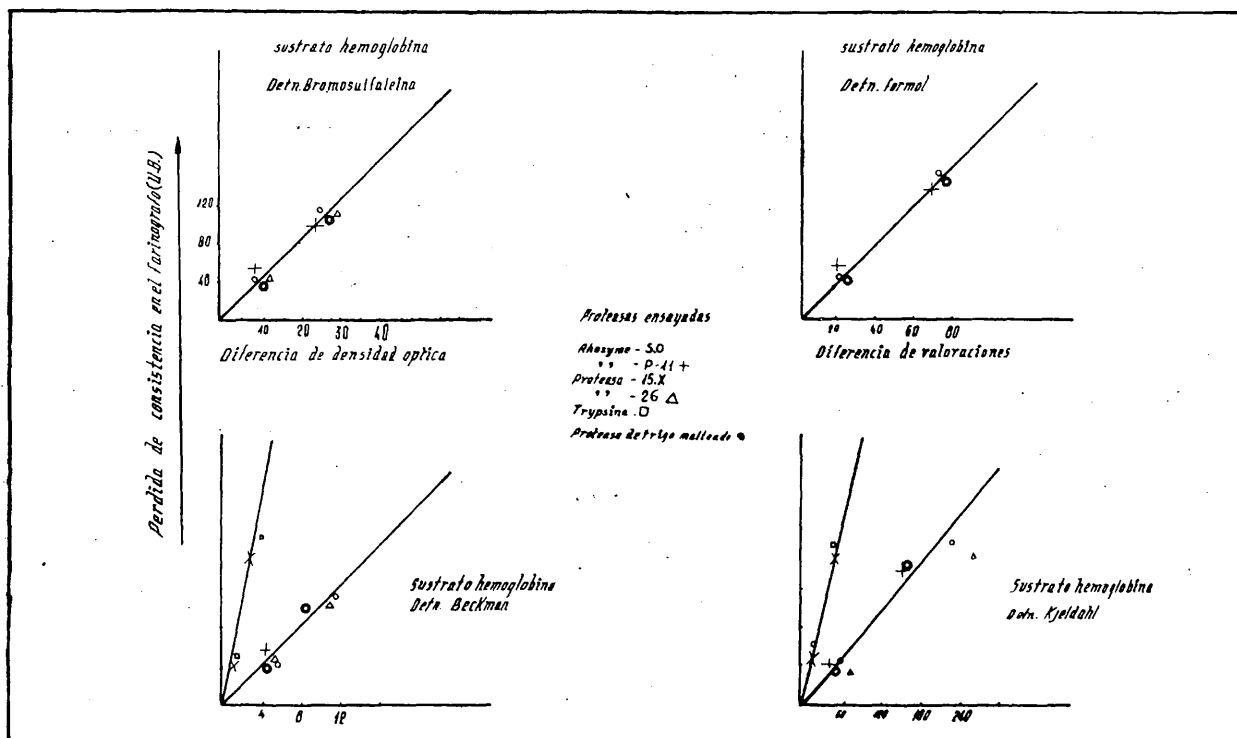


Fig. 4.—Comparación de los métodos químicos de determinación de actividad proteolítica con el método farinográfico.

Los mejorantes y la actividad proteolítica

Los conocimientos actuales sobre las proteasas del trigo son, en gran parte, resultado de la polémica suscitada por Jorgensen (1935-38) con su teoría sobre la acción de los mejorantes. Este autor, simultáneamente con Balls y Hale (1935-38) descubrieron que las proteasas eran activadas por sustancias como el glutatión y la cistina, que poseen grupos sulfhidrilos ($-SH$) (figuras 1 y 2). Los oxidantes, por el contrario, ejercían una acción inhibitoria. Basados en estos hechos experimentales atribuyeron los citados autores el efecto mejorante de ciertos aditivos oxidantes, que se venían utilizando en tecnología

de Jorgensen, debía ocurrir lo contrario. La adición de una proteasa, como la papaína, y de un activador, como el glutatión, tenía efectos distintos. Mientras que la adición de papaína a la masa ocasionaba un ablandamiento progresivo, el producido por el glutatión era inmediato y no aumentaba con el tiempo, como era de esperar, si su acción consistiera en activar la proteasa.

En la actualidad, la acción directa sobre la proteína por parte de oxidantes y reductores es un hecho ampliamente comprobado (figura 2). En una minuciosa revisión de las investigaciones realizadas sobre el tema, Freilich y Frey (1942) no descartan el mecanismo propuesto por Jorgensen, si bien le asignan

un papel secundario. Según estos autores, la acción de los mejorantes comprende los siguientes fenómenos: 1.º Acción directa sobre el gluten (figura 2); 2.º Inhibición de la actividad proteolítica, ya sea por acción directa sobre el enzima o por disminución de la susceptibilidad del sustrato; 3.º Oxidación de sustancias reductoras. Parece ser, por tanto, que la importancia de las proteasas en relación con la acción mejorante es mucho menor de lo que se creyó en principio.

Consecuencias prácticas

En la práctica panadera ordinaria, la presencia de proteasas en los productos del trigo carece realmente de importancia, ya que las concentraciones

de enzima son bajas y la sal común presente en la masa inhibe su acción.

La calidad pegajosa de masas con una proporción alta de trigo malteado se debe a la actividad de la alfa-amilasa y no a la de la proteasa. Los aditivos amilásicos fúngicos suelen llevar un complemento proteolítico de actividad conocida, lo que permite mejorar las características de suavidad, extensibilidad y amasado de harinas excesivamente tenaces.

La levadura sana no libera las proteasas que contienen sus células, no siendo aconsejable su uso si está deteriorada.

De enorme importancia es la proteolisis excesiva de los trigos «garrapatillados», así como los atacados por diversos hongos. En estos casos la degradación del gluten puede ser total, con la consiguiente inutilización de la harina para panificación.

CASTELLANA DE PIENSOS, S. A.

Industria colaboradora del Ministerio de Agricultura

PROTECTOR

Asociada a Piensos Españoles, S. A.

Concesionaria de Alimentos **PROTECTOR SPRL**, de Bruselas (Bélgica)

Alimentos equilibrados para toda clase de ganados



Final calle Goya - Teléfono 33907 - Apartado 361 - VALLADOLID

LUIS PEÑALBA.-Cereales.-Maqués de Viana, 54-Teléf. 2793260-MADRID